

Cellules E11 | 400494**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire E11 est une lignée cellulaire murine hautement spécialisée, développée pour des études avancées sur la fonction des podocytes et les mécanismes des maladies rénales. Dérivées des glomérules de souris transgéniques conçues pour exprimer une variante thermosensible de l'antigène SV40 large T, les cellules E11 fonctionnent sous la régulation du promoteur H-2kb inductible par l'IFN. Ce cadre génétique unique facilite la prolifération conditionnelle des cellules, en fonction de la température ambiante, ce qui correspond à l'expression contrôlée de l'antigène T.

L'une des caractéristiques distinctives de la lignée cellulaire E11 est sa stabilité phénotypique au cours d'un grand nombre de passages. En conservant une expression et des caractéristiques cellulaires cohérentes après plus de 40 passages, les cellules E11 se sont révélées inestimables pour les études à long terme, sans le problème courant de la dérive phénotypique observée dans de nombreuses lignées cellulaires cultivées. Cette stabilité renforce leur utilisation dans des expériences biologiques répétitives et prolongées nécessitant un comportement cellulaire cohérent.

En termes d'expression protéique, la lignée cellulaire E11 présente un profil robuste qui est essentiel pour les études spécifiques sur les podocytes. Les cellules expriment systématiquement la néphrine, un composant essentiel de la structure du diaphragme des podocytes, ainsi qu'une variété d'autres protéines spécifiques des podocytes telles que la podocine, la CD2AP et la synaptopodine. Cette expression complète des protéines facilite l'étude de la biologie des podocytes dans un environnement in vitro contrôlé, simulant étroitement les conditions in vivo. La capacité des cellules E11 à former des contacts cellule-cellule étendus souligne encore leur aptitude à modéliser les fonctionnalités de la barrière de filtration rénale.

Organism Souris**Tissue** Rein**Caractéristiques****Breed/Subspecies** (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2KbtsA58)**Age** Adulte**Gender** Non spécifié**Cell type** Podocyte**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires**

Cellules E11 | 400494

Citation	E11 (numéro de catalogue Cytion 400494)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5737
GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée de podocytes Immorto Mouse contient une construction d'antigène T SV40 sensible à la température permettant une immortalisation conditionnelle. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression	WT1, Lmx1b, néphrine, NEPHI, FAT, P-cadhérine, CD2AP, ZO-1, podocalyxine, podoplanine, synpo, podocine, TRPC6 et GAPDH.
---------------------------	---

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	Un rapport de 1:3 ou 1:5 (à 33 degrés Celsius) est recommandé Dans des conditions de différenciation, c'est-à-dire l'incubation de cultures non confluentes à 38 degrés Celsius, la prolifération cellulaire cesse dans les deux premières semaines et s'arrête après environ quatre semaines
Seeding density	Inoculer les flacons de culture cellulaire T75 avec 1×10^4 cellules/cm ² pour le processus de prolifération. Maintenir les cellules à 33 °C / 5 % de CO ₂ jusqu'à ce que le flacon soit confluent à environ 75 %.
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Cellules E11 | 400494

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

33°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules E11 | 400494

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.